

UJI AKTIVITAS ANTIPLASMODIUM EKSTRAK BENALU SECARA IN VIVO PADA MENCIT GALUR SWISS

Zulfa Faiqoh¹⁾, Anak Agung Ngurah Nata Baskara¹⁾, Danang Setia Budi¹⁾, Pramana Pananja Putra¹⁾,
Wahyu Nitari²⁾, Eti Nurwening Solikhah³⁾

¹Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada
email: zlf_24iqoh@yahoo.com; natabaskara_aangurah@yahoo.com
danangsetiabudi@gmail.com; njputra@yahoo.com

²Ilmu Keperawatan, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada
email: wahyu_nitari@ymail.com

³Bagian Farmakologi dan Terapi, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada
email: etinurwening@yahoo.com

Abstract

Malaria is one of the most prevalent tropical disease in the world. Until now, the use of antimalarials in malaria patients generated a lot of resistance so many scientists began the development of research using herbal plant ingredients, for example mistletoe (Dendrophthoe pentandra) This study was conducted to determine the effect of antiplasmodium in vivo. Antiplasmodium test conducted on P. berghei which were injected into mice suppression method. The results show that the Dendrophthoe pentandra extract has antiplasmodium activity with ED₅₀ of 146,2 mg/kgBW. It can be concluded that Dendrophthoe pentandra has the potential as an antimalarial agent in vivo.

Keywords: Dendrophthoe pentandra, malaria, antiplasmodium, mice, parasitemia, Plasmodium berghei.

1. PENDAHULUAN

Letak geografis dan kondisi iklim yang tropis membuat Indonesia sangat kaya akan spesies nyamuk. Itu artinya negeri ini juga akan selalu berisiko tinggi mengalami penyakit-penyakit yang ditularkan hewan tersebut. Dari sekitar 3000-an spesies nyamuk yang ada di dunia, Indonesia memiliki sekitar 450 jenis nyamuk. Tahun 2010 ada 229.819 kasus Malaria di Indonesia. Sedangkan di tahun 2011 jumlah kasus meningkat menjadi 256.592 kasus dengan jumlah kematian 388 orang, menurun dari tahun 2010 yang berjumlah 432 kematian (Sagita dan Ririn, 2012).

Di Indonesia terdapat empat spesies parasit malaria yaitu *Plasmodium falciparum*, *P.vivax*, *P.ovale*, dan *P.malariae*. Infeksi *Plasmodium falciparum* merupakan penyebab kesakitan dan kematian tertinggi diantara jenis malaria lainnya (Harijanto, 2007). Hal ini karena *P.falciparum* dapat menyebabkan komplikasi yang serius dan fatal, seperti malaria serebral, anemia, hipoglikemi, renal failure, dan non-cardiac pulmonary edema (Miller *et al.*, 1994). Dasar patogenesis pada

infeksi *P. falciparum* adalah kemampuannya menyebabkan Parasite-Red Blood Cell (P-RBC) mengadakan *cytoadherence* (penempelan) pada pembuluh darah kecil (kapiler/ venula). Sekuestrasi parasit ini dapat menyebabkan obstruksi perfusi jaringan (Dondorp *et al.*, 2000; Miller *et al.*, 1971).

Berbagai cara dilakukan untuk mencegah terjadinya komplikasi malaria, salah satunya yaitu dengan mencari terapi tambahan (*adjuvant*). Banyak penelitian telah dilakukan untuk mencegah terjadinya *cytoadherence* pada malaria *falciparum* dengan menggunakan zat yang bersifat antikoagulan, diantaranya dengan menggunakan heparin. Meskipun zat ini memiliki kemampuan antiadhesi P-RBC, akan tetapi karena efek sampingnya yang dapat menyebabkan perdarahan, zat ini tidak direkomendasikan sebagai obat rutin untuk malaria *falciparum*. Selain heparin, ada juga yang menggunakan Lomolecular dextran (Lomodex). Zat ini dapat meningkatkan sirkulasi serebral pada malaria *falciparum* yaitu dengan mengurangi viskositas darah. Akan tetapi dextran kadang-kadang dapat menyebabkan reaksi anafilaktik.

Seperti heparin, obat ini pun tidak dianjurkan oleh WHO (Mohanty *et al.*, 2006). Oleh karena itu, masih diperlukan obat lain yang dapat menurunkan atau mencegah terjadinya *cytoadherence* dengan tingkat keamanan yang lebih baik.

Upaya pengembangan vaksin masih terus dilakukan karena pemberantasan malaria sampai saat ini masih menghadapi berbagai kendala diantaranya akibat semakin luasnya *plasmodium* yang resisten terhadap obat anti malaria dan vektor nyamuk yang resisten terhadap berbagai insektisida. Salah satu alternatif yang dapat dilakukan adalah tindakan pencegahan terhadap infeksi malaria dengan imunisasi. Vaksin malaria yang secara efektif dapat melindungi tubuh terhadap infeksi dan komplikasi malaria saat ini masih belum ditemukan. Penelitian berbagai aspek parasitologi, imunologi, dan pengembangan vaksin malaria banyak menggunakan parasit rodensia dan mencit sebagai hospesnya. Selain itu penelitian *in vivo* pada interaksi parasit dengan hospesnya dapat dilakukan pada parasit rodensia.

Plasmodium berghei adalah hemoprotozoa yang menyebabkan penyakit malaria pada rodensia, terutama rodensia kecil. *Plasmodium berghei* banyak digunakan dalam penelitian pengembangan biologi parasit malaria pada manusia karena sudah tersedianya teknologi pembiakan secara *in vitro* dan pemurnian pada tahapan siklus hidup, pengetahuan pada susunan genom dan pengaturannya, dan sebagainya. Bahkan secara analisis molekuler *Plasmodium berghei* sama seperti *plasmodium* yang menginfeksi manusia. Dengan Model ini kemungkinan dapat dilakukan manipulasi pada hospes sehingga dapat dipelajari perubahan imunologis yang terjadi selama infeksi malaria.

Indonesia merupakan negara terbesar kedua setelah Brasilia dalam hal kekayaan keanekaragaman hayati atau merupakan negara terbesar pertama bila biota laut ikut diperhitungkan. Hal ini merupakan faktor yang sangat menguntungkan bagi upaya penelitian maupun pemanfaatan tanaman yang

dapat digunakan untuk pengobatan serta pengembangan formulasi berbagai ekstrak yang berasal dari tanaman.

Benalu (*Dendrophthoe pentandra*) adalah tumbuhan parasitik yang termasuk dalam 3000 spesies tumbuhan lain yang memiliki potensi sebagai tanaman obat (*herba medicina*). Bagian dari tumbuhan benalu yang berkhasiat sebagai *herba medicina* adalah bagian daun benalu (Djoko, 1997), seperti benalu teh dan benalu mangga. Potensi tersebut apabila digali akan menghasilkan manfaat besar. Dengan demikian mampu mengurangi biaya pengobatan sekaligus mengembangkan potensi untuk meningkatkan devisa negara.

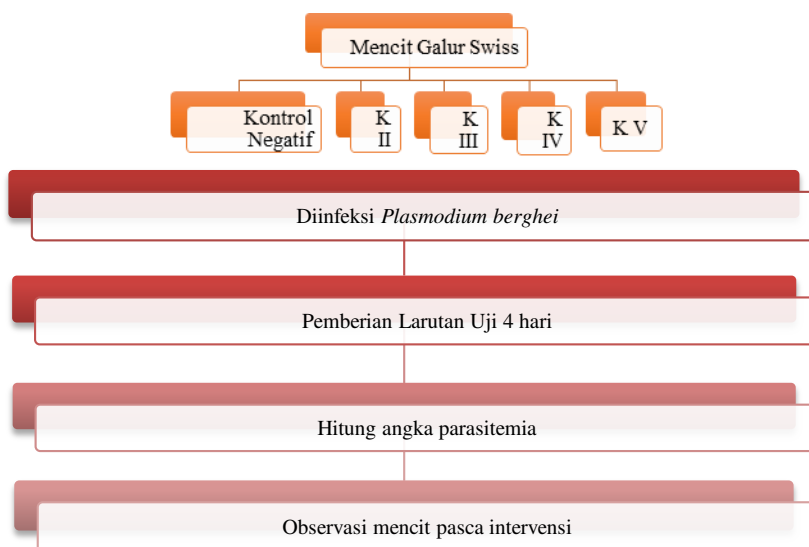
Penggunaan ekstrak benalu sebagai antimalarial akan membantu mengurangi kejadian resistensi obat antimalarial yang semakin banyak di seluruh dunia. Namun data mengenai aktivitas antimalarial benalu terhadap penyebab malaria terutama *Plasmodium berghei* masih sangat kurang. Oleh karena itu, pokokpermasalahan yang dirumuskan dalam penelitian ini adalah untuk menjawab pertanyaan tentang apakah ekstrak *Dendrophthoe pentandra* memiliki aktivitas antiplasmodium pada mencit galur Swiss yang diinfeksi *Plasmodium berghei*?

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak *Dendrophthoe pentandra* sebagai antiplasmodium secara *in vivo*. Diharapkan hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai bukti ilmiah dalam pemanfaatan benalu (*Dendrophthoe pentandra*) sebagai acuan dalam pengembangan antiplasmodium baru.

2. METODE

Desain penelitian ini adalah *quasi eksperimental* dengan rancangan percobaan *posttest only with non-equivalent control group design* untuk menentukan dosis efektif (ED₅₀) ekstrak benalu (*Dendrophthoe pentandra*) sebagai antiplasmodium pada mencit galur Swiss yang diinfeksi *P. Berghei*.

a. Rancangan Penelitian



Gambar 1. Rancangan Uji Antiplasmodium dan Penghambatan Polimerase Heme.

Subyek dalam penelitian ini adalah 60 ekor mencit putih galur *Swiss* dengan berat badan 20-30 gram dan berumur 6-8 minggu. Mencit didapatkan dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP) Universitas Gadjah Mada. Subyek penelitian dibagi dalam 5 kelompok. Setiap kelompok terdiri atas 5 ekor mencit jantan. Kelompok II-V sebagai kelompok perlakuan dan kelompok I kelompok kontrol negatif.

Bahan penelitian berupa ekstrak benalu (*Dendrophthoe pentandra*), etanol, cat Giemsa, akuades, medium RPMI 1640 (Sigma), minyak emersi, dan pakan mencit.

b. Instrumen Penelitian

Alat-alat yang digunakan adalah neraca tiga lengan, neraca analitik, spuit injeksi 1mL, gelas kimia, sonde lambung, gunting, kaca objek, kertas label, gelas ukur, pipet tetes, rak kaca objek, mikroskop cahaya, kandang mencit, dan botol air minum.

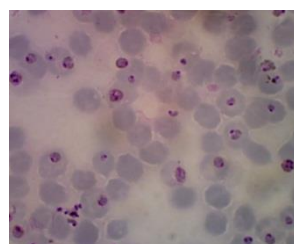
Penelitian ini dilaksanakan antara Februari 2013-Juli 2013. Pembuatan larutan uji dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Terapi FK UGM, pemberian perlakuan dan pengecatan Giemsa dilakukan di Laboratorium Parasitologi FK UGM. Pengumpulan data dilakukan berdasarkan hasil uji setelah perlakuan.

Subyek dikelompokkan sesuai dengan dosis ekstrak benalu (*Dendrophthoe pentandra*) yang diberikan. Dosis efektif yang

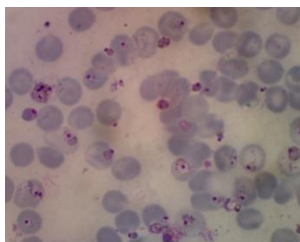
mampu menghambat pertumbuhan parasit hingga 50% (ED_{50}) dihitung berdasarkan hubungan antara dosis dan persentase hambatan pertumbuhan parasit oleh senyawa uji dengan analisis probit. Aktivitas antiplasmodium ekstrak tanaman secara *in vivo* dikelompokkan dalam 3 kategori, yaitu ekstrak yang sangat potensial (nilai $ED_{50} < 100$ mg/kgBB), ekstrak yang potensial (nilai ED_{50} antara 100-250 mg/kgBB), dan ekstrak yang kurang potensial (nilai $ED_{50} > 500$ mg/kgBB).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

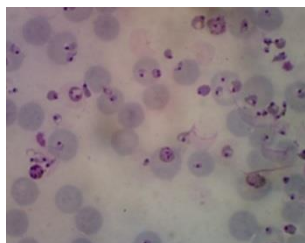
Uji aktivitas antiplasmodium ekstrak benalu menggunakan pewarnaan giemsa. Jumlah eritrosit yang terinfeksi parasit dihitung untuk mendapatkan persentase penghambatan parasitemia. Hasil pewarnaan sesuai kelompok perlakuan disajikan dalam Gambar 2-5 dan hasil perhitungan persentase penghambatan parasitemia setelah perlakuan disajikan dalam Gambar 6.



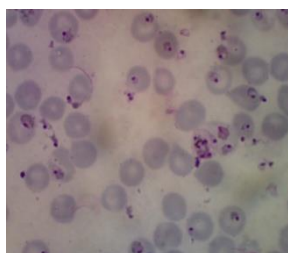
Gambar 2. Kelompok I



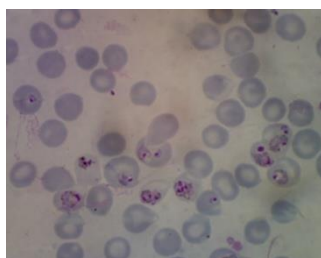
Gambar 3. Kelompok II



Gambar 4. Kelompok III



Gambar 5. Kelompok IV

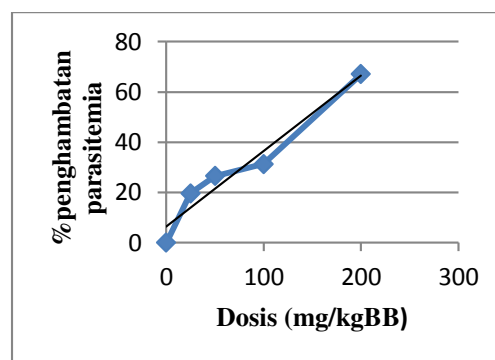


Gambar 6. Kelompok V

Berdasarkan perhitungan menggunakan analisis probit, nilai ED_{50} yang diperoleh mencapai 146,2 mg/kgBB. ED_{50} menyatakan dosis efektif yang diperlukan untuk menghambat 50% *Plasmodium berghei* yang diinfeksi ke mencit.

Dari hasil uji aktivitas antiplasmodium, diperoleh ED_{50} *Dendrophthoe pentandra* adalah 146,2 mg/kgBB. Menurut Munoz *et al.* (2000) aktivitas antiplasmodial *in vivo* dari suatu ekstrak dapat diklasifikasikan menjadi sangat

baik (jika $ED_{50} < 100$ mg/kgBB), baik (jika $ED_{50} = 100-250$ mg/kgBB) dan sedang (jika $ED_{50} > 500$ mg/kgBB). Berdasarkan klasifikasi tersebut, ekstrak etanol *Dendrophthoe pentandra* memiliki aktivitas antiplasmodium yang baik.



Gambar 7. Persentase penghambatan parasitemia

Dalam aktivitas antiplasmodium, suatu senyawa dapat melalui mekanisme penghambatan polimerase heme, inhibisi jalur folat, atau mempengaruhi sintesis DNA. Ketiga mekanisme ini akan menimbulkan efek toksik, sehingga menyebabkan kematian *plasmodium*. Untuk mengetahui jalur mana yang dilalui ekstrak etanol benalu dalam aktivitas antiplasmodium, peneliti melakukan uji penghambatan polimerase heme. Dalam uji ini, dilakukan inkubasi terhadap hematin, ekstrak etanol *Dendrophthoe pentandra*, dan asam asetat glasial selama 24 jam untuk memulai reaksi polimerase.

Selanjutnya dilakukan pembacaan absorbansi dengan ELISA plate reader pada panjang gelombang 405 nm. Hasil pembacaan absorbansi kemudian dikonversi dalam persentase penghambatan polimerase heme untuk penghitungan nilai IC_{50} menggunakan analisis probit. IC_{50} menyatakan dosis yang mampu menghambat polimerase heme sebanyak 50 %. IC_{50} yang diperoleh dalam uji ini adalah 1969,8 μ g/mL. Nilai ini cukup besar. Jadi, dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol *Dendrophthoe pentandra* kurang potensial dalam penghambatan polimerase heme. Oleh karena itu, dimungkinkan senyawa ini tidak melalui jalur penghambatan polimerase heme, melainkan melalui jalur lain.

Suatu senyawa yang di uji untuk kepentingan terapi harus diketahui pula efek

toksiknya bagi tubuh. Berdasarkan alasan tersebut peneliti juga melakukan uji sitotoksik secara *in vitro*. Uji sitotoksitas dilakukan terhadap sel Vero (sel normal yang dianalogikan sel dalam tubuh manusia). Peneliti melakukan perlakuan terhadap sel Vero menggunakan ekstrak etanol *Dendrophthoe pentandra*.

Setelah diinkubasi, absorbansi dilakukan dengan menggunakan ELISA plate reader pada panjang gelombang 595 nm. Hasil pembacaan absorbansi kemudian dikonversi dalam persentase kehidupan sel untuk penghitungan nilai IC_{50} menggunakan analisis probit. Nilai IC_{50} yang diperoleh adalah 845,6 $\mu\text{g/mL}$, artinya dalam dosis tersebut terdapat kehidupan sel sebanyak 50%.

Menurut Haryadi (2011), sebuah zat dikatakan memiliki sitotoksitas yang tinggi terhadap sel Vero dan berbahaya untuk tubuh jika memiliki $IC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$. Berdasarkan kriteria tersebut disimpulkan bahwa ekstrak etanol *Dendrophthoe pentandra* memiliki efek sitotoksik yang rendah terhadap sel Vero sehingga aman bagi tubuh.

4. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak *Dendrophthoe pentandra* memiliki aktivitas antiplasmodium yang baik terhadap *P. berghei* yang diinjeksikan ke mencit galur Swiss dengan nilai ED_{50} sebesar 146,2 mg/kgBB.

Jenis kandungan zat aktif dalam *Dendrophthoe pentandra* yang berperan aktif sebagai antimalaria belum diketahui secara pasti. Karena itu, dalam penelitian selanjutnya perlu dilakukan isolasi zat-zat aktif yang spesifik terkandung pada *Dendrophthoe pentandra* untuk mengetahui efek masing-masing zat aktif tersebut terhadap *P. berghei*.

5. REFERENSI

Collins WE. 2012. Plasmodium knowlesi: a malaria parasite of monkeys and humans. *Ann Rev Entomol* 57: 107–121.
Djoko AP. 1997. *Analisis DNA Teraklasi Oleh 1,2-Dimetilhidrasin Ekstrak Teh Hijau* (Camellia sinensis). Laporan Penelitian Dasar Tahun Anggaran 1996/1997. Jakarta: Direktorat Jendral

Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Dan Kebudayaan.
Dondorp AM, Kager PA, Vreeken J, White NJ. 2000. Abnormal Blood Flow and Red Blood Cell Deformability in Severe Malaria. *Parasitol. Today*. 16: 228–232.
Dondorp AM, Yeung S, White L, Nguon C, Day NP, Socheat D, von Seidlein, L. 2010. Artemisinin resistance: current status and scenarios for containment. *Nat Rev Microbiol* 8 (4): 272–280.
Harijanto PN. 2007. Malaria. Dalam: *Ilmu Penyakit Dalam*. Edisi Keempat. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
Levine ND. 1995. *Parasitologi Veteriner*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
Mueller I, Zimmerman PA, Reeder JC. 2007. Plasmodium malariae and Plasmodium ovale—the "bashful" malaria parasites. *Trends Parasitol* 23 (6): 278–283.
Miller LH, Good MF, Milon G. 1994. Malaria Pathogenesis. *Science* 264.
Miller LH, Shunichi U, Chien S. 1971. Alteration in The Theologic Properties of Plasmodium knowlesi Infected Red Cells. A Possible Mechanism of Cerebral Malaria. *J. Clin. Invest.* 50: 1451–1455.
Mohanty S, Patel DK, Pati SS, Mishra SK. 2006. Adjuvant Therapy in Cerebral Malaria. *Indian J Med Res* Pp: 245–260.
Muñoz V, Sauvain M, Bourdy G, Callapa J, Bergeron S, Rojas I, Bravo JA, Balderrama L, Ortiz B, Gimenez A, Deharo E. 2000. A search for natural bioactive compounds in Bolivia through a multidisciplinary approach: Part I. Evaluation of the antimalarial activity of plants used by the Chacobo Indians. *J Ethnopharmacol* 69 (2): 127–137.
Nadim B, Behrens RH. 2012. Malaria: an update for physicians. *Infect Dis Clin N Am* 26 (2): 243–259.
Pitoyo S. 1996. Mistletoe Holculture, Control and Utilisation. *Trubus Agriwidia*.
Sagita D, Indriani R. 2012. *Indonesia Rawan Malaria*. Diakses tanggal 15 Oktober 2012. <<http://www.beritasatu.com/mobil/kesehatan/44451-indonesia-rawan-malaria.html>>
Sarkar PK, Ahluwalia G, Vijayan VK, Talwar A. 2009. Critical care aspects of malaria. *J Intensive Care Med* 25 (2): 93–103

- Staines HM, Krishna S. 2012. *Treatment and Prevention of Malaria: Antimalarial Drug Chemistry, Action and Use*. Berlin: Springer.
- Thomas V. 1983. *Parasitologi Perubatan*. Ed ke-1. Kuala Lumpur: Dewan Bahasa Pustaka.
- Windari FI, Rahajoe JS. 1998. Mistletoes diversity in Java Island. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*, 4: 25-29.